

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



La présente invention concerne les procédés et dispositifs de broyage de concassage et/ou de mélange de matériels.

Plus précisément, l'invention concerne un procédé et un dispositif permettant de broyer de manière rapide et efficace un grand nombre d'échantillons de matériel. Une application particulièrement avantageuse de l'invention qui sera décrite dans ce texte à titre d'exemple est le broyage d'échantillons de matière végétale ; cependant l'invention peut également s'appliquer à tout type de matériel susceptible d'être broyé pour des applications expérimentales ou industrielles (en particulier dans les domaines biologique et chimique : broyage d'os, de tissus vivants ou inertes, mais également de matières plastiques, d'aliments, d'éléments minéraux...)

Un premier procédé connu pour broyer des matériels consiste à utiliser un mortier et un pilon.

Ce procédé est encore très largement utilisé pour de nombreuses applications, y compris le broyage d'échantillons végétaux en vue de leur étude en laboratoire ou de leur exploitation industrielle, qui est comme on l'a dit une des applications préférées de l'invention (par exemple pour un protocole d'extraction d'ADN).

Ce procédé classique, s'il permet de broyer des échantillons relativement importants (de l'ordre de 5 à 10 grammes de matériel végétal), est cependant mal adapté au broyage d'échantillons de taille moins importante, car dans ce cas les pertes associées diminuent le rendement et faussent les quantités obtenues.

De plus, avec ce procédé il est nécessaire de transférer le matériel broyé dans un autre récipient pour son utilisation ultérieure (analyse, dosage dans un mélange expérimental ou industriel...), ce qui crée des risques de contaminations et d'erreurs de dosage.

Enfin, ce procédé étant réalisé manuellement, son rendement est intrinsèquement très limité (de l'ordre de 10 échantillons seulement par personne et par heure). On connaît certes des dispositifs visant à améliorer les résultats de ce procédé (voir en particulier le mortier du US 4 397 425),

mais ils ne permettent pas de répondre efficacement aux inconvénients cités ci-dessus.

Un perfectionnement de ce procédé, utilisé en particulier pour des applications biologiques ou chimiques, consiste à broyer manuellement des échantillons placés directement dans un tube à essais classique avec une tige de verre rodée. Cette technique ne permet toutefois de broyer que des échantillons de taille relativement peu importante (500 milligrammes au maximum) et son rendement demeure limité (100 échantillons par personne et par heure).

On connaît également par le US 3 847 363 un dispositif plus sophistiqué de broyage, mais dans ce cas encore le rendement demeure limité, et ce dispositif n'est pas affranchi de l'inconvénient important lié aux risques de contaminations et d'erreurs de dosage, du fait de la nécessité de transférer le matériel broyé dans un autre récipient pour son exploitation ultérieure.

Par ailleurs, on connaît un dispositif automatique qui transmet à un bol en acier inoxydable de forme allongée un mouvement alternatif selon une direction horizontale parallèle à l'axe d'allongement du bol. Pour broyer un matériel, le matériel est placé avec une ou plusieurs billes dans le bol fermé, l'agitation du bol provoquant le mouvement des billes qui broient le matériel.

Ce dispositif, s'il représente un certain progrès par rapport aux moyens de broyage cités ci-dessus, ne permet cependant que le broyage d'une quantité de matériau très limitée, et ce broyage est effectué selon la direction horizontale qui est une configuration dans laquelle le rendement du broyage n'est pas optimal. De plus, la mise en œuvre de ce dispositif nécessite presque toujours le transfert du matériel broyé vers un tube à essais ou autre récipient de traitement ultérieur, ce qui entraîne les risques de contamination et d'erreur de dosage associés cités plus haut.

Enfin, dans le cas où on désire broyer un matériel congelé (ce qui est couramment le cas, notamment pour des applications en biologie végétale), il est nécessaire d'associer à ce broyeur un dispositif complexe de

réfrigération, ce qui augmente le temps de réalisation du broyage et diminue son rendement.

Le but de l'invention est de permettre de broyer des matériels de natures diverses, notamment des matériels végétaux, biologiques ou chimiques, lesdits matériels pouvant se présenter sous forme de matériel  
5 frais ou ayant subi un traitement préalable tel qu'une lyophilisation ou une congélation, en s'affranchissant des inconvénients cités ci-dessus.

Afin d'atteindre ce but, l'invention propose selon un premier aspect un procédé de broyage d'au moins un matériel, en particulier d'un  
10 échantillon végétal, comportant une étape d'agitation selon une direction de référence d'au moins un récipient fermé qui renferme le ou les matériels et au moins une bille solide, caractérisé en ce que ladite direction de référence est la direction verticale, chaque récipient fermé est un tube à essais de forme allongée, la direction d'allongement du tube étant parallèle  
15 à la direction de référence, et en ce que l'agitation de chaque tube se fait selon une direction parallèle à ladite direction de référence.

Des aspects préférés, mais non limitatifs du procédé selon l'invention sont les suivants :

- le ou les matériels comprennent un échantillon végétal et le  
20 procédé comporte la récolte de l'échantillon végétal et la mise en tube de l'échantillon végétal et l'obturation étanche de chaque tube, immédiatement après la récolte de l'échantillon végétal.
- lors de l'étape d'agitation, les tubes sont placés sur au moins un portoir.
- 25 • le procédé comporte préalablement à l'étape d'agitation une étape de congélation du ou des tubes et lors de l'étape d'agitation, le ou les tubes sont placés sur au moins un portoir isotherme.
- l'agitation du ou des tubes est réalisée par un mouvement de va-et-vient de fréquence donnée pouvant être contrôlée.
- 30 • ladite fréquence est variable.
- le procédé comporte préalablement à l'étape d'agitation un traitement du ou des matériels tel qu'une lyophilisation.

Selon un deuxième aspect, l'invention propose un dispositif pour la mise en œuvre de l'étape d'agitation d'un procédé selon l'un des aspects cités ci-dessus.

Des aspects préférés, mais non limitatifs du dispositif selon l'invention sont les suivants :

- il comporte une embase destinée à recevoir fixement au moins un portoir P sur lequel sont placés les tubes à essais, et des moyens pour imprimer à l'embase un mouvement alternatif de translation verticale de fréquence donnée contrôlée.
- Il est associé à des moyens de commande du mouvement de l'embase.
- les moyens pour imprimer à l'embase un mouvement alternatif de translation verticale de fréquence donnée contrôlée comprennent un piston, une bielle et un vilebrequin.

D'autres aspects, buts et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture de la description suivante d'une forme préférée de réalisation de l'invention faisant référence au dessin de la figure unique annexée qui représente schématiquement en élévation latérale un dispositif permettant de mettre en œuvre le procédé selon l'invention.

Sur cette figure unique, on a représenté un socle 100 sur lequel sont fixées deux équerres 101 et 102 qui se font face, chaque équerre portant deux rails 103 (un seul rail de chaque équerre apparaissant sur la figure), de sorte que les rails de chaque équerre soient en regard l'un de l'autre en couvrant la même course verticale.

Une embase 104 qui s'étend horizontalement est montée sur un support 105 qui est solidaire de quatre roulements 106, qui peuvent coopérer avec les rails 103 des équerres, l'embase 104 ne pouvant ainsi se déplacer que selon une translation verticale (la direction verticale correspondant à l'axe Z de la figure).

L'embase 104 est destinée à recevoir sur sa face supérieure un portoir P tel que ceux utilisés de manière connue pour porter une série de tubes à essais. Il est également prévu des moyens pour fixer le portoir sur

l'embase ; dans le mode de réalisation décrit ici, ces moyens comprennent quatre goujons 1041 solidaires de l'embase, qui traversent une platine de bridage 107, un boulon de serrage rapide 108 étant associé à chaque goujon pour serrer la platine de bridage sur le dessus du portoir et le rendre  
5 solide de l'embase 104.

L'embase 104 et le portoir peuvent ainsi se déplacer selon la direction verticale, une butée 109 étant prévue sur au moins un des rails du dispositif afin de limiter la course de l'embase vers le haut.

Le dispositif comprend également un piston 110 fixé sous la face  
10 inférieure de l'embase et dont l'extrémité basse est articulée par un axe 111 sur une première extrémité haute d'une bielle 112, l'extrémité basse de la bielle étant articulée par un axe 113 sur un vilebrequin 114 qui est entraîné par un moteur électrique (non représenté sur la figure).

L'ensemble est recouvert par un capot 115 pouvant être réalisé en  
15 tôle, fixé sur les bords du socle 100. Le dispositif est associé à une console de commande 20 qui est reliée par des câbles électriques C au moteur afin de commander son alimentation, la console 20 comprenant un bouton 21 de mise en marche du moteur, un bouton 22 d'arrêt du moteur, un bouton 23 permettant de faire fonctionner le moteur de manière discontinue  
20 (alimentation électrique par pulsations carrées ou sinusoïdales par exemple), un bouton 24 d'arrêt d'urgence et un bouton rotatif 25 de commande de la vitesse de rotation du moteur par potentiomètre.

Selon l'invention, on place des échantillons de matière, par exemple de matière végétale, dans des tubes à essais classiques dans lesquels sont  
25 également introduites une ou plusieurs billes qui peuvent être réalisées en acier inoxydable ou non, ou dans tout autre matériau (par exemple en agate, en verre, en corindons, en oxyde de zirconium, en polystyrène, ...) en fonction du résultat recherché.

Immédiatement après l'introduction du matériel à broyer dans le  
30 tube, on bouche le tube de manière étanche et on le place sur le portoir P (la platine de bridage 107 ne le recouvrant pas encore). On peut ainsi placer une pluralité de tubes sur le portoir. La Demanderesse a ainsi



dimensionné des prototypes dont le portoir peut porter l'une des configurations suivantes :

- plaques de microtitration de 96 puits,
- 121 tubes individuels de 1,5 ml,
- 5 • 384 tubes de 1 ml en plaque format 96 (dits tubes microniques),
- 121 tubes de 5 ml,
- 81 tubes de 20 ml,
- 36 tubes de 30 ml.

Les tubes sont des tubes de forme allongée tels que ceux utilisés  
10 classiquement en chimie ou en biologie ; ils peuvent être à usage unique ou non. On peut également mettre en œuvre plusieurs portoirs sur l'embase 104.

De façon avantageuse, la quantité de matière introduite dans les récipients représente environ de 5 à 80% du volume du récipient, et de  
15 façon particulièrement avantageuse, un tiers du volume du récipient.

De façon avantageuse, en même temps que la matière à broyer, des additifs, solvants ou réactifs peuvent être introduits dans le récipient.

Ainsi, par rapport aux dispositifs existants, l'invention permet de broyer des échantillons dont la taille peut décrire une très large gamme.

20 Le portoir est ensuite recouvert par la bride qui le maintient fixe par rapport à l'embase 104, et on commande l'alimentation du moteur grâce à ces boutons de contrôle. Sous l'effet de l'entraînement du moteur, le vilebrequin entraîne par l'intermédiaire de la bielle 112 le piston 110 dans un mouvement de va-et-vient vertical alternatif qui est transmis à l'embase  
25 104, au portoir P et aux brides qu'il porte. La ou les billes contenues dans chaque tube sont entraînées par ce mouvement et provoquent le broyage du matériel contenu dans le tube. On notera que le vilebrequin peut être dimensionné de façon à faire contrepoids à l'ensemble des éléments en mouvement (embase 104, portoir et ses tubes, platine de bridage 107), afin  
30 d'éviter les vibrations du dispositif.

On notera en outre que, en fonction de la taille des tubes utilisés et de la nature du matériel à broyer, le diamètre des billes peut être optimisé afin d'améliorer le broyage.

La Demanderesse a mené des études démontrant que la durée de  
5 broyage d'un portoir d'échantillon peut varier entre environ deux et six minutes. Par exemple pour des tubes de 1,5 ml, il est ainsi possible de broyer 726 échantillons par heure et par personne ; on constate ainsi que l'invention permet d'accroître également grandement le rendement quantitatif du broyage (les protocoles de broyage développés par la  
10 Demanderesse permettent en particulier le broyage rapide d'échantillons variant de 50 milligrammes à 5 grammes).

Du fait que le broyage est effectué directement dans un tube à essais, aucun transfert de matériel n'est nécessaire pour mener des étapes ultérieures de dilution/dosage du matériel broyé pour l'exploitation et/ou  
15 l'expérimentation, ces étapes ultérieures pouvant être réalisées dans le même tube. De la sorte, les risques de contamination et d'erreur de manipulation se trouvent considérablement réduits. De plus, le fait que le broyage se passe en tube individuel clos diminue encore les risques de contamination. Enfin, afin de diminuer encore ce risque il est tout à fait  
20 possible de collecter directement les échantillons végétaux sur champ à l'intérieur des tubes et de reboucher ceux-ci de manière étanche au moment de la récolte.

Selon une autre caractéristique importante de l'invention, les portoirs sont rendus isothermes par tout moyen connu en soi tel qu'une enveloppe  
25 en matériau isolant, ce qui permet le broyage de matériels ou de tissus frais, mais également lyophilisés ou congelés. Dans la pratique, il se révèle en effet souvent avantageux de congeler des échantillons frais par immersion (par exemple dans de l'azote liquide), avant de les disposer sur les portoirs P, car le broyage de matériels ou de tissus congelés s'avère  
30 souvent plus efficace.

Sous l'effet de l'entraînement du moteur, le vilebrequin 114 et la bielle 112 entraînent le piston 110, l'embase 104 et le portoir P dans un

mouvement de va-et-vient vertical dont il est possible de commander la fréquence grâce au bouton 25 du variateur de la console de commande.

Il est également possible de commander par le bouton 23 un fonctionnement pulsé du moteur (« coup par coup », variations sinusoïdales de la vitesse...), ce qui peut s'avérer avantageux dans certains protocoles de broyage.

Il est ainsi possible d'ajuster les caractéristiques du broyage pour adapter la vitesse et le fonctionnement du moteur à la nature du matériel à broyer, et au résultat désiré.

10 Ceci se révèle avantageux en particulier dans le traitement de matériels de dureté diverse (feuilles, tissus foliaires, tiges, racines, graines...).

A titre d'exemple, la Demanderesse a ainsi procédé au broyage de 2500 échantillons de 2 grammes chacun, chaque échantillon étant placé  
15 dans un tube de 30 ml avec deux billes de 15 mm de diamètre. Après congélation dans l'azote liquide, les tubes étaient placés sur le portoir isotherme, 36 tubes prenant place sur le portoir. Après 4 minutes d'agitation, le résultat du broyage est de qualité supérieure à celle obtenue par broyage dans un mortier car plus homogène.

20 Il est ainsi possible de faire varier la fréquence d'agitation du portoir, par exemple entre 0 et 900 allers retours verticaux par minute.

Une caractéristique importante de l'invention réside dans le fait que les matériels à broyer sont placés dans des tubes à essais qui renferment une ou plusieurs billes, et auxquels on imprime un mouvement alternatif  
25 dans une direction parallèle à la direction longitudinale du tube ; cette disposition permet à la fois de réaliser le broyage sans nécessiter de transfert dans un autre récipient, et de garantir une très bonne qualité dudit broyage.

De plus, le fait que l'agitation des tubes se fasse selon la direction  
30 verticale permet de combiner les effets de l'entraînement du tube et de la ou des billes par le moteur, à celui de la gravité qui agit également sur la ou les billes du tube.

L'invention peut être appliquée pour le broyage de matériels divers, une application préférée étant comme on l'a dit le broyage d'échantillons végétaux ; il est également possible de broyer tout type de matériel, l'invention pouvant également être mise en œuvre pour la rupture ou la  
5 désintégration de cellules (bactéries, levures ou autres).

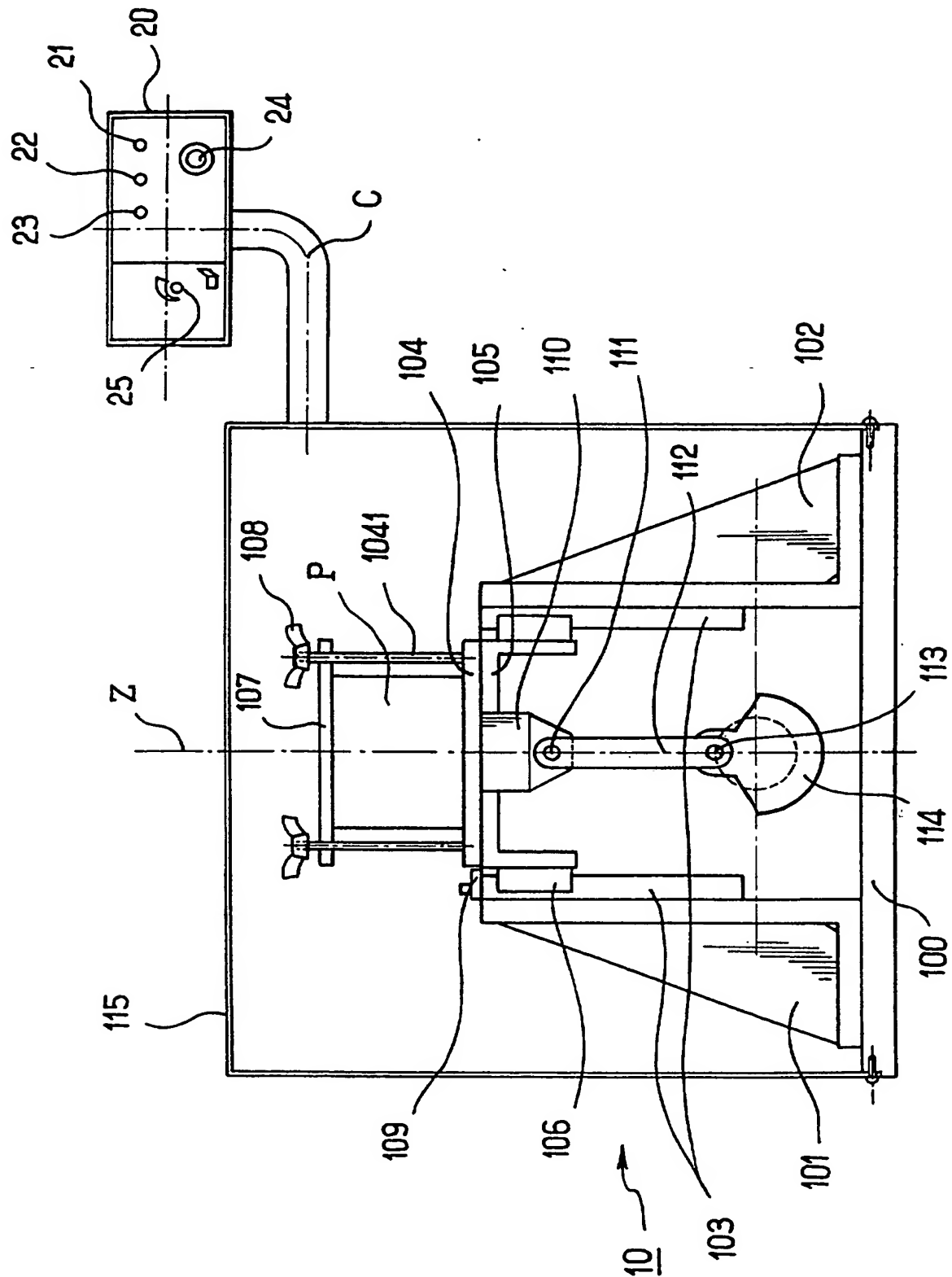
En outre l'invention permet non seulement de broyer des matériels mais également de mélanger de façon homogène des matières de nature diverse.

Bien entendu, l'invention n'est pas limitée au mode de réalisation  
10 particulier décrit ci-dessus ; en particulier on pourra prévoir de mettre en œuvre tout moyen connu pour imprimer un mouvement de va et vient alternatif vertical au portoir P.

## REVENDEICATIONS

1. Procédé de broyage d'au moins un matériel, en particulier d'un  
5 échantillon végétal, comportant une étape d'agitation selon une direction de référence (Z) d'au moins un récipient fermé qui renferme le ou les matériels et au moins une bille solide, caractérisé en ce que ladite direction de référence est la direction verticale, chaque récipient fermé est un tube à essais de forme allongée, la direction d'allongement du  
10 tube étant parallèle à la direction de référence (Z), et en ce que l'agitation de chaque tube se fait selon une direction parallèle à ladite direction de référence.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le ou les  
15 matériels comprennent un échantillon végétal et le procédé comporte la récolte de l'échantillon végétal et la mise en tube de l'échantillon végétal et l'obturation étanche de chaque tube, immédiatement après la récolte de l'échantillon végétal.
- 20 3. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que lors de l'étape d'agitation, les tubes sont placés sur au moins un portoir (P).
4. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce  
25 que le procédé comporte préalablement à l'étape d'agitation une étape de congélation du ou des tubes et lors de l'étape d'agitation, le ou les tubes sont placés sur au moins un portoir isotherme.
5. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce  
30 que l'agitation du ou des tubes est réalisée par un mouvement de va-et-vient de fréquence donnée pouvant être contrôlée.

6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que ladite fréquence est variable.
7. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce  
5 que le procédé comporte préalablement à l'étape d'agitation un traitement du ou des matériels tel qu'une lyophilisation.
8. Dispositif (10) pour la mise en œuvre de l'étape d'agitation d'un procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il  
10 comporte une embase (104) destinée à recevoir fixement au moins un portoir (P) sur lequel sont placés les tubes à essais, et des moyens (110-114) pour imprimer à l'embase un mouvement alternatif de translation verticale de fréquence donnée contrôlée.
- 15 9. Dispositif selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il est associé à des moyens de commande (20) du mouvement de l'embase.
10. Dispositif selon la revendication 8 ou 9, caractérisé en ce que les  
20 moyens pour imprimer à l'embase un mouvement alternatif de translation verticale de fréquence donnée contrôlée comprennent un piston (110), une bielle (112) et un vilebrequin (114).





# RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

2804047

N° d'enregistrement  
nationalFA 584243  
FR 0000868

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	CH 671 891 A (JANKE & KUNKEL GMBH CO KG) 13 octobre 1989 (1989-10-13) * page 2, colonne de droite, ligne 37 - ligne 64; revendications 1-6; figure 1 *	1,2,4-6, 8-10	B02C19/12 B02C17/16 G01N1/28 G01N33/48
A	DE 296 15 162 U (HEIDOLPH ELEKTRO GMBH & CO KG) 31 octobre 1996 (1996-10-31) * le document en entier *	1,2,5,8	
A	US 4 295 613 A (MOORE W EDWARD C ET AL) 20 octobre 1981 (1981-10-20) * abrégé; figures 1,2 *	1,4,8	
A	DE 35 00 211 A (RETENMAIER JUN JOSEF) 10 juillet 1986 (1986-07-10) * page 16, alinéa 1 - alinéa 2; revendication 1; figures 1-3 *	1,8,10	
A	US 4 109 874 A (STOEV STOYCHO MITREV ET AL) 29 août 1978 (1978-08-29) * abrégé; figures 1,2 *	1,8	
A	US 5 702 060 A (BASSET DIEGO ET AL) 30 décembre 1997 (1997-12-30) * colonne 2, ligne 31 - ligne 37; figure 2 *	1,8	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
			B02C G01N
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
6 octobre 2000		Verdonck, J	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

1

EPO FORM 1503 12.98 (P04C14)